



Eingegangen

Dr. G. Meyer-Roedern

0 1. DEZ. 2000

Frist:

①2

Gebrauchsmuster

U 1

- (11) Rollennummer G 91 01 082.9
- (51) Hauptklasse C12M 1/34
Nebenklasse(n) G01N 15/00 G01N 21/05
- (22) Anmeldetag 31.01.91
- (47) Eintragungstag 18.04.91
- (43) Bekanntmachung
im Patentblatt 29.05.91
- (30) Priorität 05.02.90 AT A 240/90
- (54) Bezeichnung des Gegenstandes
Einrichtung zur Überprüfung des morphologischen
Zustandes von Biomassen in Fermentern
- (71) Name und Wohnsitz des Inhabers
Kempe, Eberhard, Dipl.-Ing., 1000 Berlin, DE
- (74) Name und Wohnsitz des Vertreters
Cohausz, W., Dipl.-Ing.; Knauf, R., Dipl.-Ing.;
Cohausz, H., Dipl.-Ing.; Werner, D., Dipl.-Ing.
Dr.-Ing.; Redies, B., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;
Schippan, R., Dipl.-Ing. Dr.-Ing., Pat.-Anwälte,
4000 Düsseldorf

Beschreibung:

Die Erfindung betrifft eine Einrichtung zur Überprüfung des morphologischen Zustands von Biomassen in Fermentern, mit einem Mikroskop, dessen Objektiv relativ zu einem Stativ verstellbar ist und dessem Okular eine Videokamera oder dergl. Bildaufnahme-einrichtung zugeordnet ist.

Herkömmlicherweise wird beim Mikroskopieren von Mikroorganismen und dergl. Medien aus Fermentern derart vorgegangen, daß eine Probe dieses Mediums auf einem Objektträger (Glasplättchen) angebracht wird, der im Mikroskop unterhalb des Objektivs angeordnet wird, wonach diese Probe durch das Mikroskop hindurch betrachtet sowie gegebenenfalls, wenn mit dem Mikroskop eine Videokamera verbunden ist, ein Bild hiervon aufgenommen wird. Für eine laufende Beobachtung und Überwachung beispielsweise von Mikroorganismen, etwa der Entwicklung in einem Fermenter, ist eine derartige Vorgangsweise jedoch außerordentlich umständlich.

In diesem Zusammenhang ist von Bedeutung, daß der Einsatz biotechnologischer Verfahren in den letzten Jahren stark zugenommen hat. Dies wurde zum einen durch die Umstellung einer Reihe von Produktionsverfahren in der chemischen Industrie bewirkt, wo chemisch-synthetische Verfahrensschritte durch "sanftere" biotechnologische Prozesse ersetzt wurden, und zum anderen wird das Spektrum der Anwendungsgebiete mikrobiologischer Verfahren durch die ständig wachsende Zahl von genetisch manipulierten Mikroorganismen immer größer.

In der Folge nimmt die Steuerung und Regelung biotechnologischer Prozesse bei wachsender Komplexität der Verfahren eine immer wichtigere Rolle ein. Es wird künftig notwendig werden, neben bereits üblichen Steuerungsparametern, wie Temperatur, pH-Wert, Gelöstsauerstoff, andere aussagekräftige Parameter zu definieren und zur Regelung und Steuerung des Prozesses einzusetzen. Bei mikrobiologischen Verfahren, insbesondere bei submersen Fermentationen, ist der morphologische Zustand der Mikroorganismen sehr oft ein Hinweis auf deren physiologischen Zustand. So treten z.B. Sprossungen, Zellteilungen oder Mycelverzweigungen bei Vorliegen ganz bestimmter physiologischer

Voraussetzungen ein, welche wiederum durch die Art und Zusammensetzung des umgebenden Mediums gesteuert werden können.

Die Morphologie des Objektes, in diesem Fall der Zellen, wurde bisher noch nicht als Entscheidungskriterium zur Prozeßsteuerung in Betracht gezogen, vor allem, da die damit verbundenen Manipulationen kompliziert waren. 5

Es ist nun Aufgabe der Erfindung, hier Abhilfe zu schaffen und eine Einrichtung der eingangs angeführten Art vorzusehen, mit der ein problemloses, einfaches und rasches, insbesondere auch automatisiertes Mikroskopieren und Überprüfen der genannten Medien im Hinblick auf eine automatische Prozeßsteuerung ermöglicht wird. 10

Die erfindungsgemäße Einrichtung der eingangs angeführten Art ist gekennzeichnet durch eine als Objektträger fungierende, am Stativ benachbart dem Objektiv angebrachte Durchflußmeßzelle mit Anschlüssen zur Zu- und Abführung von zu mikroskopierenden fließfähigen Proben aus dem Fermenter, und durch einen an die Bildaufnahmeeinrichtung angeschlossenen Rechner zur Bildauswertung bzw. -erkennung. 15

Bei der vorliegenden Anordnung wird somit die jeweilige Probe im Durchflußverfahren über Leitungen der Durchflußmeßzelle zu-bzw. 20 von dieser abgeführt. Selbstverständlich wird dabei für das Mikroskopieren selbst bzw. für die Aufnahme eines Bildes mit Hilfe einer Videokamera oder dergl. ein stationärer Zustand in der Durchflußmeßzelle herbeigeführt, um die gewünschte Beobachtung bzw. Bildaufnahme zu ermöglichen. Mit der vorliegenden Einrichtung kann daher ohne aufwendige Manipulationen der morphologische Zustand der Zellen über eine - insbesondere vollautomatische - Mikroskopsonde und eine damit verbundene Videokamera auf einem Monitor dargestellt werden. In Verbindung mit einer computerunterstützten Bildauswertung ist somit eine automatische Erkennung von Zellzuständen möglich. In der Folge kann auch eine Prozeßsteuerungs-Automatisierung auf Basis einer automatischen Bildauswertung erreicht werden.

Das Mikroskop kann dabei im großen und ganzen in herkömmlicher Weise aufgebaut sein, wobei die Durchflußmeßzelle insbesondere unterhalb des Objektivs angebracht wird, und wobei insbesondere eine an sich bekannte Grobeinstellung mit Hilfe eines

Spindeltriebs oder dergl. vorgesehen sein kann. Im Hinblick auf die erfindungsgemäß vorgesehene Durchflußmeßzelle, die einen bleibenden, stationären, mit dem Stativ verbundenen Bauteil des Mikroskops darstellt, sind jedoch bei der vorliegenden Einrichtung beim Mikroskopieren im Vergleich zur bisherigen Technik in der Regel geringfügigere Feineinstellungen, sofern überhaupt, erforderlich, wobei die Feineinstellung in besonders vorteilhafter Weise mit Hilfe von elektronischen Mitteln, zwecks Erzielung einer besonders hohen Genauigkeit, ermöglicht wird. Demgemäß ist es nach der Erfindung besonders vorteilhaft, wenn zur Feineinstellung des Objektivs relativ zur Durchflußmeßzelle ein - vorzugsweise vom Rechner gesteuerter - Piezotranslator vorgesehen ist, der am Stativ angebracht ist und über einen Übertragungshebel am Objektiv angreift. Dabei wird dem Piezotranslator, der selbstverständlich mit den entsprechenden elektrischen Anschlüssen versehen ist, insbesondere mit Hilfe des für die Bildauswertung bzw.-erkennung vorgesehenen Rechners die jeweils erforderliche Steuerspannung zugeführt, und er kann eine translatorische Bewegung mit sehr hoher Genauigkeit, z.B. im Bereich von 0,1 mm, ausführen. Die Anordnung kann dabei derart getroffen sein, daß das Objektiv mechanisch durch den Piezotranslator von der Durchflußzelle wegbewegt wird.

Zur Rückbewegung kann dann in einfacher Weise vorgesehen sein, daß das Objektiv mit einer als Rückstelleinrichtung vorgesehenen Feder verbunden ist.

Im Hinblick auf eine einfache, herstellungstechnisch vorteilhafte Ausbildung ist es günstig, wenn die Durchflußmeßzelle zur Bildung eines Gehäuses zwei Ringkörper aufweist, die je eine mittige, durch eine Glasplatte verschlossene Öffnung für den Lichtdurchtritt aufweisen und unter Bildung einer Meßkammer zwischen den Glasplatten sowie unter deren gegenseitiger Abdichtung, z.B. mit Hilfe eines O-Ringes, zusammengehalten sind, wobei Mediumzu- und -abführkanäle in die Meßkammer münden. Die genannten Ringkörper können dabei problemlos mit der erforderlichen Präzision hergestellt werden, und die Glasplatten können mit diesen Ringkörpern verklebt werden.

Um der Meßkammer zwischen den Glasplatten in vorteilhafter Weise die jeweilige Probe zuführen zu können, ist es weiters von Vorteil, wenn die Mediumzu- und -abführkanäle im unteren Ringkörper vorgesehen sind, dessen Glasplatte mit Öffnungen zur Zu- und Abführung der Proben versehen ist.

Vorzugsweise ragt das Objektiv in der Betriebsstellung in einen im Gehäuse befindlichen oberen Aufnahmeraum hinein, so daß es sich mit seinem stirnseitigen, unteren Ende unmittelbar oberhalb der Meßkammer befindet.

Für den Betrieb ist es günstig, wenn der Durchflußmeßzelle eine Mediumzuleitung, eine -ableitung sowie eine Spülleitung zugeordnet sind und in jeder dieser Leitungen ein Absperrorgan, insbesondere ein Magnetventil, angebracht ist. Mit einer derartigen Anordnung kann auf bequeme Weise eine Automatisierung erzielt werden. Hiefür ist es weiters günstig, wenn die Zuleitung von einer mit einer Pumpe versehenen, an den Fermenter angeschlossenen Hauptleitung abzweigt, in der weiters nach dieser Abzweigung ein Absperrorgan vorgesehen ist. Die Absperrorgane sind vorzugsweise steuerseitig an den Rechner angeschlossen.

Bei Anwendung der letztgenannten Ausführungsformen wird im Zuge der Überprüfung des morphologischen Zustandes von Biomassen in Fermentern zweckmäßig derart vorgegangen, daß zuerst zum Spülen der Meßkammer die Absperrorgane in der Zu- und Spülleitung geöffnet werden, hingegen das Absperrorgan in der Ableitung geschlossen gehalten wird, daß dann zur Zuführung einer Probe das Absperrorgan in der Zuleitung geöffnet gehalten, jenes in der Spülleitung geschlossen und jenes in der Ableitung geöffnet wird, wonach die Meßkammer dadurch entspannt wird, daß das Absperrorgan in der Zuleitung geschlossen wird, während das Absperrorgan in der Ableitung noch offen gehalten wird, und daß schließlich das Absperrorgan in der Ableitung ebenfalls geschlossen wird und die Bildaufnahme erfolgt.

Es ist weiters günstig, wenn zur Verdünnung der Probe vor der Zuführung zur Durchflußzelle eine Dosiereinrichtung vorgesehen ist, die ein Verdünnungsmittel zugibt, um eine vorgegebene Probenkonzentration einzustellen.

Für die automatisierte Durchführung ist es hier schließlich günstig, wenn auch die Dosiereinrichtung vom Rechner gesteuert ist.

Es sei noch erwähnt, daß es beispielsweise aus der US-A-4 338 024 bereits bekannt ist, bei Blutuntersuchungen mit einem Mikroskop, dem eine spezielle Strömungskammer zugeordnet ist, einen Rechner zur Bildverarbeitung zu verwenden, v.a. um die Zellenzahl zu bestimmen. Andererseits ist es in Zusammenhang mit labortechnischen, insbesondere medizinischen Untersuchungen bekannt, Einrichtungen in der Art von Durchflußmeßzellen mit kapillaren Strömungskanälen vorzusehen, um an den durchströmenden Medien fototechnische Messungen (s. AT-B-276 813) vorzunehmen bzw. Krankheitserreger zu diagnostizieren (DE-A-2 613 582). Diese Untersuchungs- und Meßtechniken stehen aber in keinem Zusammenhang mit mikrobiologischen Verfahren der hier in Rede stehenden Art.

Die Erfindung wird nun nachstehend anhand von Ausführungsbeispielen unter Bezugnahme auf die Zeichnung noch weiter erläutert. In der Zeichnung zeigen im einzelnen:

Fig. 1 eine schematische Seitenansicht einer in der vorliegenden Einrichtung zur verwendenden Mikroskopiereinrichtung mit einem Blockschaltbild - ähnlich veranschaulichten Bilderkennungs- bzw. auswertungssystem, mit einer Kamera und einem Rechner;

Fig. 2 den in Fig. 1 mit dem Kreis II angegebenen Ausschnitt, teilweise in Schnittdarstellung, in vergrößertem Maßstab;

Fig. 3 eine Draufsicht auf den Oberteil der bei dieser Mikroskopsonde vorgesehenen Durchflußmeßzelle;

Fig. 4 einen Querschnitt durch diesen Oberteil, gemäß der Linie IV-IV in Fig. 3, wobei der zur Abdichtung vorgesehene O-Ring zwecks besserer Veranschaulichung vor der Montage in Abstand von diesem Oberteil gezeigt ist;

Fig. 5 eine Draufsicht auf den Unterteil der Durchflußmeßzelle;

Fig. 6 einen Querschnitt durch diesen Unterteil gemäß der Linie VI-VI in Fig. 5;

Fig. 7 einen Detailausschnitt zur Veranschaulichung der Meßkammer der Durchflußmeßzelle, in gegenüber Fig. 4 bzw. 6 weiter vergrößertem Maßstab;

Fig. 8 ein Leitungsschema der vorliegenden Einrichtung, zur Veranschaulichung der mit der Meßkammer verbundenen Leitungen und der darin vorgesehenen Absperrorgane; und

Fig. 9 ein Blockschaltbild des bei der vorliegenden Einrichtung verwendeten Bilderkennungs- bzw. -auswertungssystems.

In Fig. 1 ist eine allgemein mit 10 bezeichnete Mikroskopiereinrichtung oder kurz Mikroskopsonde dargestellt, die ein Stativ 11 aufweist, das in herkömmlicher Weise über einen Tubushalter 12 den Mikroskoptubus 13 mit einem oberen Okular 14 und einem unteren Objektiv 15, unterhalb einer Zwischenlinse 16, trägt. Zur Grobeinstellung ist eine Einstelleinrichtung 17 vorgesehen, die an sich herkömmlich ist und hier nicht näher erläutert werden muß.

In an sich ebenfalls herkömmlicher Weise ist am Fuß 18 des Stativs 11 eine Lampe 19 angebracht, und oberhalb von dieser Lampe 19 befindet sich der Kondensor 20, für dessen Einstellung eine Einstelleinrichtung 21, ebenfalls von herkömmlicher Bauart, vorgesehen ist.

Auf einem Meßzellenhalter 22, der fest mit dem Stativ 11 verbunden ist, ist sodann eine Durchflußmeßzelle 23 mit Anschlüssen 24 für die Zu- bzw. Abführung von zu mikroskopierenden fließfähigen Medien angebracht. Es sei hier erwähnt, daß die vorliegende Mikroskopsonde 10 in Verbindung mit einem Fermenter zu verwenden ist, wobei die Durchflußmeßzelle 23 an den Fermenter anzuschließen ist, wie etwa aus Fig. 8 ersichtlich ist.

Zur Feineinstellung des Objektivs 15 dient weiters ein Piezotranslator 25, der über einen winkelförmigen Übertragungshebel 26 auf das Objektiv 15 eine translatorische Bewegung (nach oben, d.h. im Sinne eines Abhebens von der Durchflußmeßzelle 23) überträgt.

Dieser Eingriff ergibt sich deutlicher aus der Detaildarstellung von Fig. 2, in der ersichtlich ist, wie die vertikalen Bewegungen des Piezoelements des Piezotranslators 25 über den Winkelhebel 26 sowie ein Verbindungselement 27 auf das

Objektiv 15 übertragen werden, wobei das Objektiv 15 ferner mit einer Schraubenfeder 28 als Rückstelleinrichtung zum Abwärtsbewegen des Objektivs 15 versehen ist.

Der Aufbau der Durchflußmeßzelle und die Anordnung von deren Meßkammer ergibt sich deutlicher aus den Fig. 3 bis 7, die in einem im Vergleich zu Fig. 2 vergrößerten Maßstab die einzelnen Komponenten der Durchflußmeßzelle 23 veranschaulichen. Wie ersichtlich ist dabei ein ringförmiger Oberteil, nachstehend oberer Ringkörper 29 genannt, vorgesehen, der an seiner Oberseite eine im wesentlichen zylindrische Aufnahme- Ausnehmung 30 für das Objektiv 15 aufweist. An der Unterseite dieses oberen Ringkörpers 29 ist im Bereich einer mittigen Öffnung 31 eine Glasplatte 32 angeklebt. Diese Glasplatte 32 ist weiters von einer Ringnut 33 umschlossen, in die ein O-Ring 34 eingelegt bzw. eingeklebt wird. Dieser O-Ring 34 dient zur Abdichtung der eigentlichen Meßkammer, vgl. insbesondere Fig. 7, in der diese spaltförmige Meßkammer bei 35 angegeben ist.

Gemäß Fig. 5 und 6 besteht der Unterteil der Durchflußmeßzelle ebenfalls im wesentlichen aus einem Ringkörper 36, in dem eine mittige Öffnung 37 für den Durchtritt des Lichts (s. auch Pfeile 38 in Fig. 7) von der in Fig. 1 dargestellten Lampe 19 vorgesehen ist. An der Oberseite des Ringkörpers 36 ist eine diese mittige Öffnung 37 verschließende Glasplatte 39 angebracht, insbesondere angeklebt. Diese Glasplatte ist mit insgesamt drei Bohrungen 40, 41 und 42 versehen, s. insbesondere Fig. 5, die an der Unterseite der Glasplatte im Ringkörper 36 vorgesehene, durch entsprechende Bohrungen gebildete Kanäle 43, 44 und 45 mit der oberhalb der Glasplatte 39 vorgesehenen Meßkammer 35 verbinden. An der Oberseite der Glasplatte 39 ist weiters vorzugsweise eine Vertiefung 46 zur Bildung eines Verbindungskanals zwischen den Bohrungen 40 und 41 vorgesehen, wie aus Fig. 5 ersichtlich ist.

Zum Zusammenspannen der Ringkörper 29, 36 sind in diesen Bohrungen 47, 48 vorgesehen, die nicht näher dargestellte Bolzen aufnehmen können.

In Fig. 5 sind sodann noch die auch in Fig. 1 gezeigten Anschlüsse 24 schematisch angedeutet. An diesen Anschlüssen 24, etwa nicht näher veranschaulichte Gewindefittinge, Luerkonus-

artige Einrichtungen oder dergl., werden eine Zuleitung 50, eine Ableitung 51 sowie eine Spülleitung 52 angeschlossen, vgl. außer Fig. 5 und 6 insbesondere auch Fig. 8. Dabei ist die Zuleitung 50 mit dem Kanal 43, die Ableitung 51 mit dem Kanal 44 und die Spülleitung 52 mit dem Kanal 45 im unteren Ringkörper 36 verbunden.

Gemäß Fig. 8 zweigt die Zuleitung 50 von einer Hauptleitung 53 ab, in der eine Pumpe 54 vorgesehen ist, wobei weiters hinter der Abzweigung 55 ein Absperrorgan 3 in der Hauptleitung 53 vorgesehen ist. In der Zuleitung 50 befindet sich ein Absperrorgan 4, in der Ableitung 51 ein Absperrorgan 1 und in der Spülleitung 52 ein Absperrorgan 2. Die Absperrorgane 1 bis 4 sind vorzugsweise durch elektrisch ansteuerbare Solenoidventile gebildet, wobei die Ansteuerung rechnerseitig erfolgt, wie nachstehend noch näher erläutert werden wird.

Sodann sind in Fig. 8 noch schematisch die Meßkammer 35 der Durchflußmeßzelle 23 sowie der Meßkammereingang 56 und der Meßkammerausgang 57 angedeutet.

Im Betrieb wird die Pumpe 54 mit ihrer Niederdruckseite 58 ("Zulauf") an einen in Fig. 8 nur ganz schematisch angedeuteten Fermenter 59 mit einem laufend zu überprüfenden Medium angeschlossen. Die Pumpe 54 pumpt dabei das Medium über die Hauptleitung 53 und das offene Ventil 3 wieder in den Fermenter 59 zurück ("Ablauf"). Während dieser Wartezeit, wo keine Probe der Durchflußmeßzelle 23 zugeleitet wird, sind die Ventile 4 (in der Zuleitung 50), 1 (in der Ableitung 51) und 2 (in der Spülleitung 52) geschlossen, s. auch das nachfolgende Steuerschema gemäß Tabelle I. Bevor dann eine Probe in der Meßkammer 35 mikroskopiert sowie gegebenenfalls ein Bild - mit Hilfe einer in Fig. 1 gezeigten, oberhalb des Okulars 14 angebrachten Videokamera 60 - aufgenommen wird, erfolgt ein Spülvorgang, wobei hiefür das Ventil 3 in der Hauptleitung 53 geschlossen und die Ventile 4 (in der Zuleitung 50) und 2 (in der Spülleitung 52) geöffnet werden. Der Mediumfluß erfolgt somit über die Hauptleitung 53, die Abzweigung

55, die Zuleitung 50, und die Spülleitung 52. Durch diesen Spülvorgang wird sichergestellt, daß nur frisches Medium aus dem Fermenter 59 der Durchflußmeßzelle 23 und insbesondere deren Meßkammer 35 zugeführt wird.

Danach wird eine Probe genommen, d.h. das frische Medium in die Meßkammer 35 geleitet. Zu diesem Zweck wird das Ventil 2 in der Spülleitung 52 geschlossen, und das Ventil 1 in der Ableitung wird geöffnet, so daß der Mediumfluß nunmehr über die Zuleitung 50, die Meßkammer 35 und die Ableitung 51 erfolgt. Bevor nun ein Bild aufgenommen wird, wird noch die Meßkammer 35 entspannt. Hiefür wird das Ventil 4 in der Zuleitung 50 geschlossen, während das Ventil 1 in der Ableitung 51 weiterhin geöffnet bleibt und das Ventil 3 in der Hauptleitung 53 geöffnet wird. Das Medium wird nun von der Pumpe 54 in der Hauptleitung 53 über das Ventil 3 im Kreislauf gepumpt.

Sodann wird, um einen völlig stationären Zustand in der Meßkammer 35 sicherzustellen, auch das Ventil 1 in der Ableitung 51 geschlossen, so daß nunmehr die Ventile, 4, 2 und 1 in allen mit der Meßkammer 35 verbundenen Leitungen geschlossen sind. Danach kann die Beobachtung durch das Mikroskop sowie insbesondere die Bildaufnahme mit Hilfe der Kamera 60 erfolgen. Gleichzeitig ist damit bereits die Einstellung für das Warten auf den nächsten Probezyklus erreicht.

Tabelle I

STEUERPROGRAMM	Ventile			
	1	2	3	4
Warten auf nächsten Probezyklus	zu	zu	auf	zu
Spülen der Probeleitung	zu	auf	zu	auf
Probe nehmen	auf	zu	zu	auf
Meßkammer entspannen	auf	zu	auf	zu
Bild aufnehmen	zu	zu	auf	zu

Für die Bildaufnahme erfolgt wie erwähnt, abgesehen von einer vorherigen Grobeinstellung, die Feineinstellung, d.h. präzise

Fokussierung, mit Hilfe des Piezotranslators 25. Dieser Piezotranslator 25 kann von einem in Fig. 1 ganz schematisch veranschaulichten Computer 61 (vgl. auch Fig. 9) angesteuert werden, und er führt eine translatorische Bewegung mit außerordentlich hoher Genauigkeit im Bereich von 0,1 mm aus. Der Piezotranslator 25 hebt dabei das Objektiv 15 mechanisch von der Durchflußmeßzelle 23 ab. Die nachfolgende Rückstellung erfolgt wie ebenfalls bereits erwähnt über die Feder 28.

Der zur Ansteuerung des Piezotranslators 25 vorgesehene Rechner 61 ist mit der Kamera 60 verbunden, um automatisch Bildschärfinformationen zu verarbeiten und entsprechende Regelsignale für den Piezotranslator 25, soweit erforderlich, zu erzeugen. Dieser Rechner 61 kann sodann auch zur Ansteuerung der Magnetventile 1 bis 4 gemäß Fig. 8 eingesetzt werden, um so einen automatischen Meß- bzw. Bildaufnahmeablauf zu erreichen. Dabei können selbstverständlich die Intervalle zwischen den einzelnen Bildaufnahmen je nach Bedarf eingestellt werden.

Bei der Beobachtung und Überwachung von Mikroorganismen ist eine in der Zeichnung nicht näher veranschaulichte Weiterbildung zweckmäßig, gemäß der eine vorgegebene Biomassekonzentration automatisch eingestellt wird. Da nämlich durch den Wachstumsprozeß der Mikroorganismen diese Biomassekonzentration im Bioreaktor nicht konstant ist, wird eine entsprechende Verdünnung der jeweils gezogenen Probe vorgesehen. Zu diesen Zweck wird der Durchflußmeßzelle 23 eine nicht näher gezeigte Dosiereinrichtung zugeordnet, mit deren Hilfe ein Verdünnungsmittel, insbesondere Verdünnungswasser, der entnommenen Probe zugeführt wird, um so diese Probe zu verdünnen und dadurch die vorgegebene Probenkonzentration einzustellen. Diese Dosiereinrichtung kann dabei in ihrer Einstellung ebenfalls durch den erwähnten Rechner 61 angesteuert werden.

In Fig. 9 ist die vorliegende Anordnung in einem Schema veranschaulicht, wobei die Mikroskopsonde 10 vereinfacht mit einem Anschluß 62 zur Verbindung mit dem in Fig. 9 nicht dargestellten Fermenter (59 in Fig. 8) gezeigt ist. Mit der Mikroskopsonde 10 ist die Videokamera 60 als Bildaufnahmeeinrichtung verbunden, und an diese ist der Rechner 61 angeschlossen. Über eine Schnittstelle

63 ist mit dem Rechner 61 ein Monitor 64 verbunden. Weiters ist der Rechner 61 für die durchzuführende Bildauswertung bzw. Bilderkennung beispielsweise mit einer Datenbank 65 verbunden, und ferner liefert der Rechner 61 an einer I/O-Einheit 66 Steuersignale, insbesondere für die vorerwähnten Ventile 1 bis 4, für den Piezotranslator 25 für die Fein-Scharfeinstellung der Mikroskopsonde 10 sowie gegebenenfalls für die Einstellung einer Dosiereinrichtung, falls eine solche vorgesehen ist, wie vorstehend erwähnt wurde. Es sei hier noch erwähnt, daß diese Ansteuerung durch den Rechner 61 im Schema von Fig. 8 bei den Absperrventilen 1 bis 4 jeweils durch ein Viereck schematisch angedeutet ist.

Im Betrieb wird das zu verarbeitende Signal von der Videokamera 60 aufgenommen, wobei vorwiegend eine CCD-Kamera verwendet wird, bei der ein Halbleiter als lichtempfindlicher Sensor arbeitet (CCD-charge coupled device - ladungsgekoppelte Einrichtung).

Das analoge Videosignal der Kamera 60 wird, was in der Zeichnung nicht näher veranschaulicht ist, in an sich herkömmlicher Weise in einen digitalen Datenstrom umgesetzt und in einem Bildspeicher abgelegt, von wo der angeschlossene Rechner 61 die Auswertung durchführt. Auf dem an den Rechner 61 angeschlossenen Videomonitor 64 kann der Bildverarbeitungsprozeß (z.B. in Pseudofarben) beobachtet werden.

Die Bearbeitung des Bildmaterials kann beispielsweise in zwei Stufen erfolgen, die nachstehend näher erläutert werden.

In einem ersten Schritt bei der Bildbearbeitung erfolgt eine "Verbesserung" der digitalisierten Bilder. Dabei wird nicht unbedingt versucht, die Wiedergabe des jeweiligen digitalisierten Bildes so zu optimieren, daß sie dem Original möglichst nahe kommt, vielmehr ist es häufig von Vorteil, wenn das Bild drastisch verändert wird, um so die gewünschten Bildteile für die Erfassung besonders hervorzuheben. Hiefür können innerhalb des Rechners bzw. der zugehörigen Software an sich herkömmliche, komplexe Filteroperationen eingesetzt werden, wie z.B. Kantenextraktion, Fouriertransformation, um so die weitere Auswertung durch Datenreduktion zu erleichtern.

In einem zweiten Schritt werden, da das Ziel der Bildverarbeitung vor allem das Identifizieren und Zählen bestimmter mikroskopischer Objekte nach Form und Gestalt ist (z.B. Mycelfäden), die Bilder nach verschiedenen Algorithmen, je nach Art der Probe usw., "durchsucht". Die Algorithmen sind dabei selbstverständlich der jeweiligen Problemstellung anzupassen, wobei z.B. die Proben auf Sprossungen, Zellteilungen oder Mycelverzweigungen zu untersuchen sind, und wobei je nachdem, ob derartige Sprossungen, Mycelverzweigungen usw. vorliegen, d.h. mit dem Bildauswertesystem festgestellt werden, vom Rechner 61 entsprechende Reaktionen, etwa eine erhöhte Zufuhr bestimmter Medien zum Fermenter 59, im Fall einer festgestellten Bakterieninfektion z.B. eine Änderung des pH-Wertes im Fermenter 59 usw., im Sinne einer automatischen Prozeßsteuerung ausgelöst werden. Derartige Steuersignale werden ebenfalls bei 66 (Fig. 9) erhalten, wobei eine weitere Veranschaulichung von für die Prozeßsteuerung noch vorzusehenden Einrichtungen, wie Dosierventilen am Fermenter 59 usw., da an sich herkömmlich, unterbleiben kann.

Auf diese Weise können die Ergebnisse der Bildauswertung der Prozeßsteuerung des Fermenters 59 (Fig. 8) zur Verfügung gestellt werden.

Abweichend von der dargestellten Ausführungsform ist es selbstverständlich auch denkbar, bei identischer Ausbildung der Durchflußmeßzelle 23 ein sog. Unterflur-Mikroskop zu verwenden, d.h. das Mikroskop 10 unterhalb der Durchflußmeßzelle 23 anzuordnen.

Schutzansprüche:

1. Einrichtung zur Überprüfung des morphologischen Zustands von Biomassen in Fermentern (59), mit einem Mikroskop (10), dessen Objektiv (15) relativ zu einem Stativ (11) verstellbar ist und dessem Okular (14) eine Videokamera oder dergl.

Bildaufnahmeeinrichtung (60) zugeordnet ist, gekennzeichnet durch eine als Objektträger fungierende, am Stativ (11) benachbart dem Objektiv (15) angebrachte Durchflußmeßzelle (23) mit Anschlüssen (24) zur Zu- und Abführung von zu mikroskopierenden fließfähigen Proben aus dem Fermenter (59), und durch einen an die Bildaufnahmeeinrichtung (60) angeschlossenen Rechner (61) zur Bildauswertung bzw. -erkennung.

2. Einrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßzelle (23) unterhalb des Objektivs (15) angebracht ist.

3. Einrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß zur Feineinstellung des Objektivs (15) relativ zur Durchflußmeßzelle (23) ein Piezotranslator (25) vorgesehen ist, der am Stativ (11) angebracht ist und über einen Übertragungshebel (26) am Objektiv (15) angreift.

4. Einrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Piezotranslator (25) vom Rechner (61) gesteuert ist.

5. Einrichtung nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Objektiv (15) mit einer als Rückstelleinrichtung vorgesehenen Feder (28) verbunden ist.

6. Einrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußmeßzelle (23) zur Bildung eines Gehäuses zwei Ringkörper (29, 36) aufweist, die je eine mittige, durch eine Glasplatte (32, 39) verschlossene Öffnung für den Lichtdurchtritt aufweisen und unter Bildung einer Meßkammer (35) zwischen den Glasplatten sowie unter deren gegenseitiger Abdich

tung, z.B. mit Hilfe eines O-Ringes (34), zusammengehalten sind, wobei Mediumzu- und -abführkanäle (43, 44, 45) in die Meßkammer (35) münden.

7. Einrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Mediumzu- und -abführkanäle (43, 44, 45) im unteren Ringkörper (36) vorgesehen sind, dessen Glasplatte (39) mit Öffnungen (40, 41, 42) zur Zu- und Abführung der Proben versehen ist.

8. Einrichtung nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Objektiv (15) in der Betriebsstellung in einen im Gehäuse befindlichen oberen Aufnahmeraum (30) hineinragt.

9. Einrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchflußmeßzelle (23) eine Mediumzuleitung (50), eine -ableitung (51) sowie eine Spülleitung (52) zugeordnet sind und in jeder dieser Leitungen (50, 51, 52) ein Absperrorgan (4, 1, 2), z.B. ein Magnetventil, angebracht ist.

10. Einrichtung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Zuleitung (50) von einer mit einer Pumpe (54) versehenen, an den Fermenter (59) angeschlossenen Hauptleitung (53) abzweigt, in der weiters nach dieser Abzweigung (55) ein Absperrorgan (3) vorgesehen ist.

11. Einrichtung nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Absperrorgane (1-4) steuerseitig an den Rechner (61) angeschlossen sind.

12. Einrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, gekennzeichnet durch eine Dosiereinrichtung zur Verdünnung der Probe vor der Zuführung zur Durchflußzelle unter Zugabe eines Verdünnungsmittels, um eine vorgegebene Probenkonzentration einzustellen.

13. Einrichtung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Dosiereinrichtung vom Rechner (61) gesteuert ist.

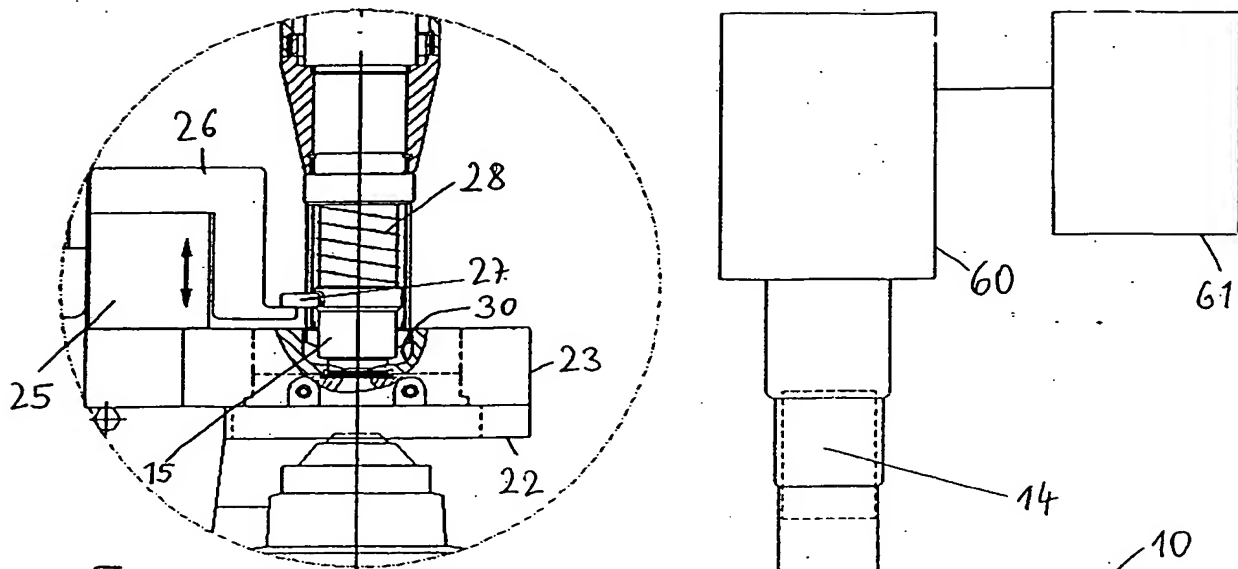


FIG. 2

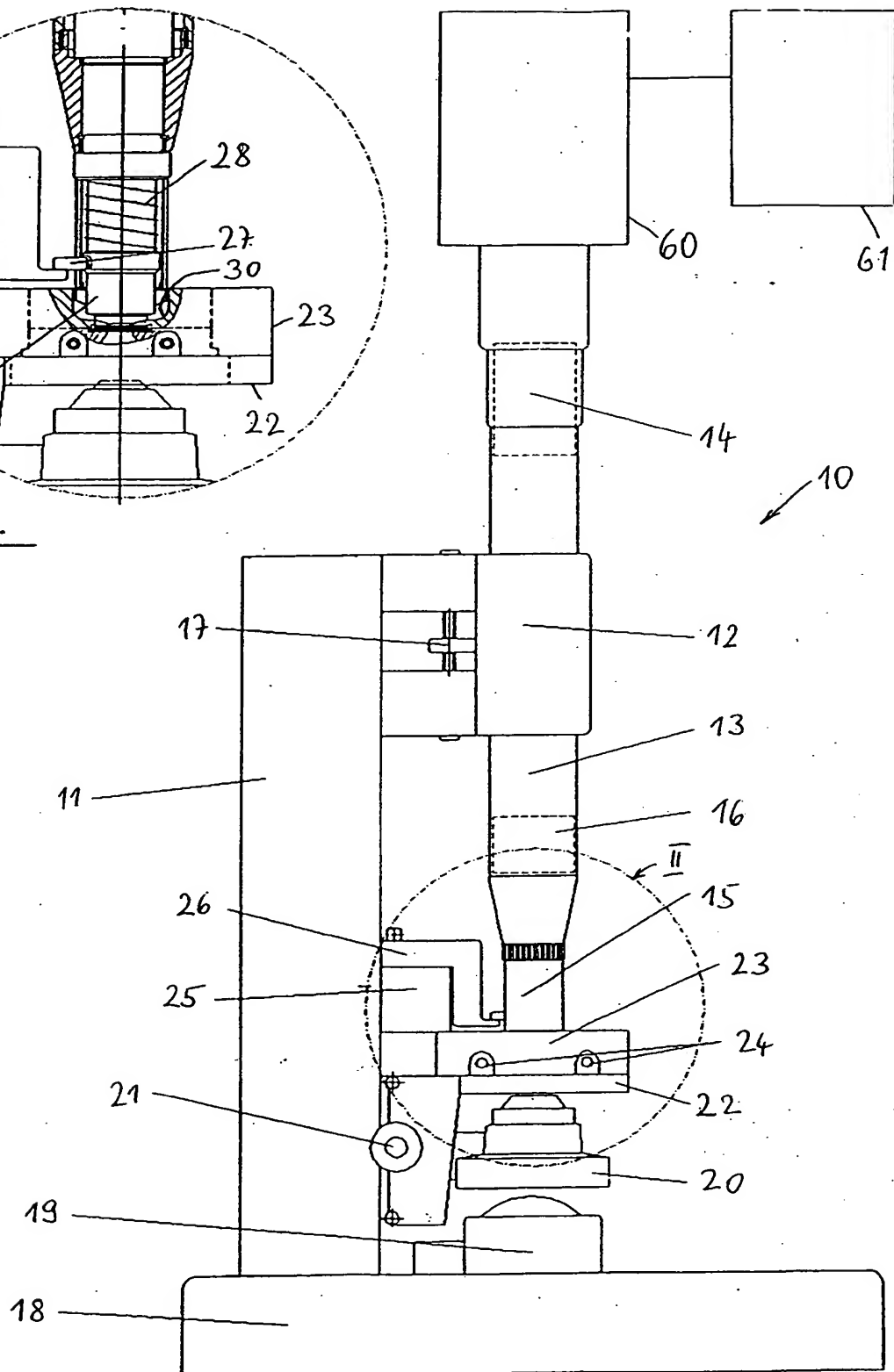


FIG. 1

FIG. 3

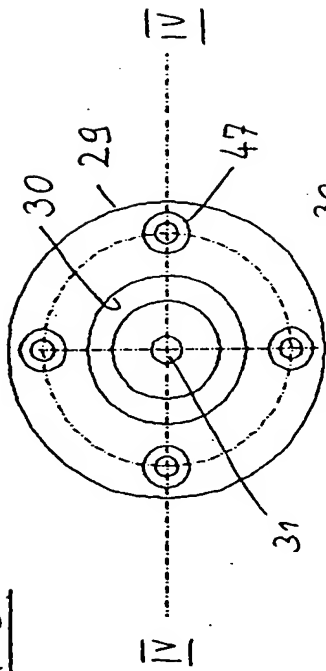


FIG. 4

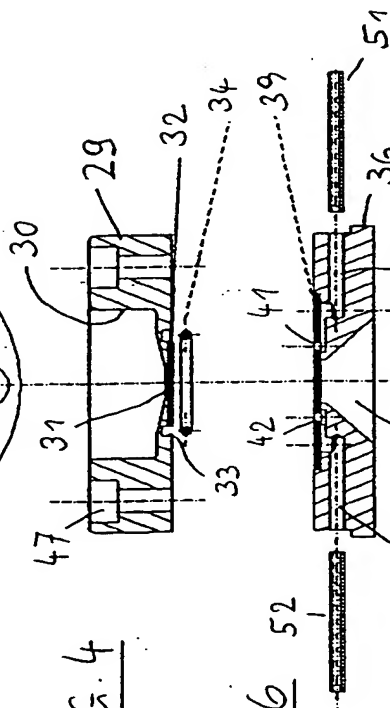


FIG. 6



FIG. 5

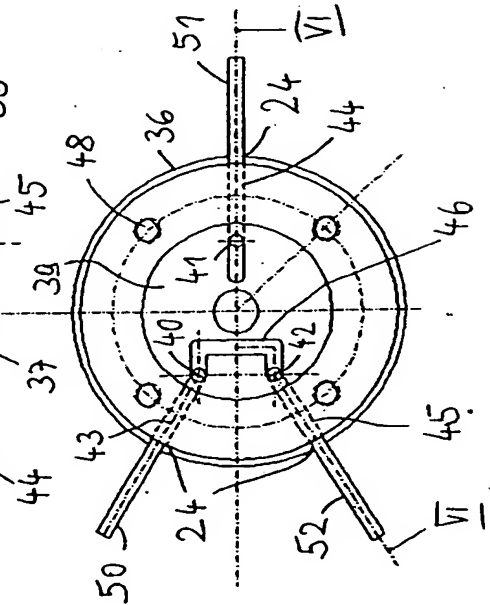
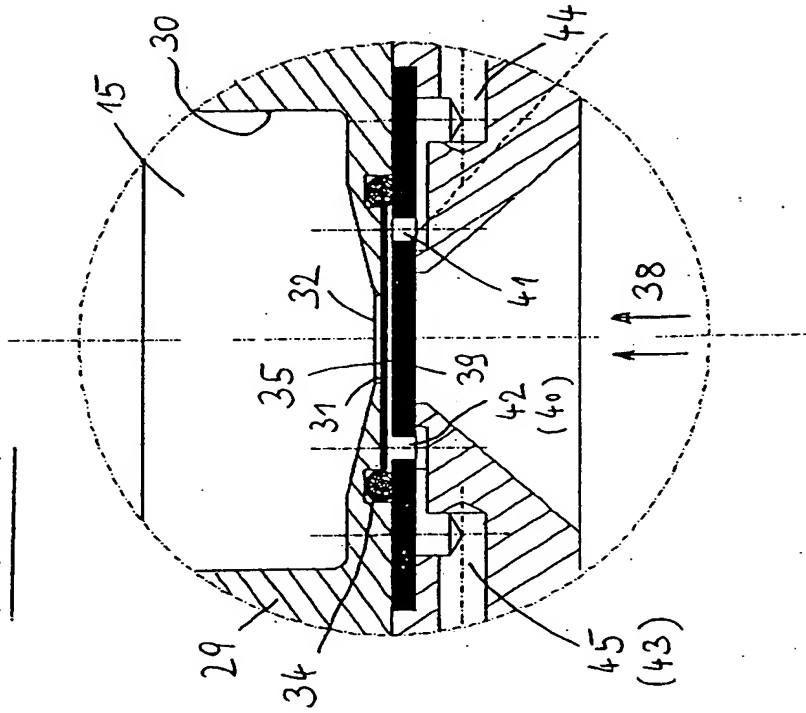
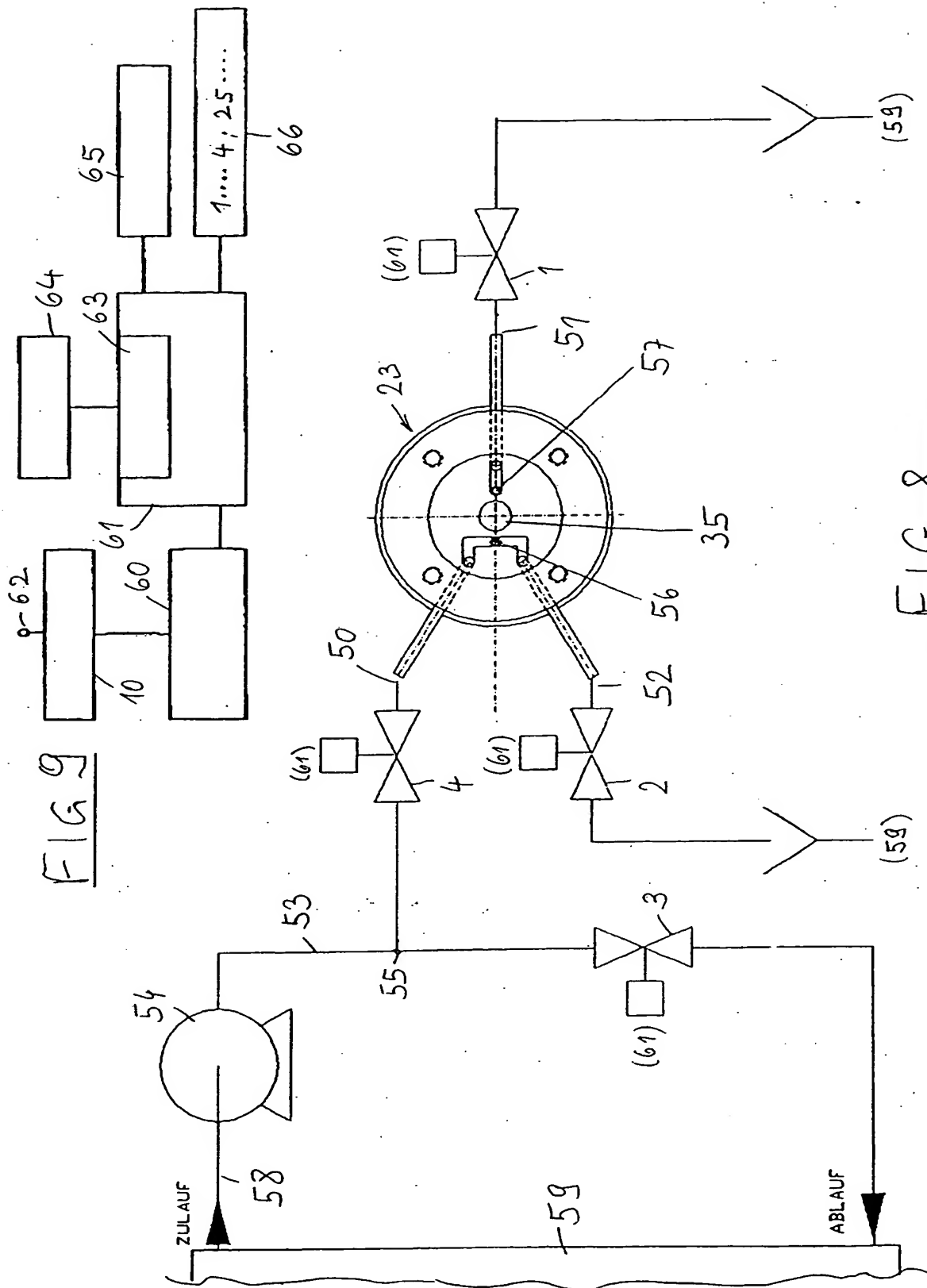


FIG. 7





8.5-1